

УДК 577.22

## МИТОПТОЗ, ДВАДЦАТЬ ЛЕТ СПУСТЯ

### Обзор

© 2020 К.Г. Лямзаев<sup>1</sup>, Д.А. Кнорре<sup>1,2</sup>, Б.В. Черняк<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991 Москва, Россия; электронная почта: bchernyak1@gmail.com

<sup>2</sup> Первый московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, 119992 Москва, Россия

Поступила в редакцию 08.07.2020

После доработки 14.08.2020

Принята к публикации 14.08.2020

Термин «митоптоз» был предложен В.П. Скулачевым в 1999 г. для обозначения программированной элиминации митохондрий в живой клетке. В модели массивного повреждения митохондрий, связанного с окислительным стрессом, был обнаружен новый механизм полной элиминации митохондрий, который включал кластерообразование в перинуклеарной области, формирование «митоптозного тельца», окруженного однослойной мембраной, и последующий выброс митохондрий из клетки. Выяснилось, что митоптоз играет важную роль в процессах дифференцировки клеток, включая терминальную дифференцировку, в самоподдержании гематопоэтических стволовых клеток, а также в метаболической перестройке. К митоптозу можно отнести элиминацию отцовских митохондрий при материнском наследовании митохондриального генома, а также асимметричное наследование митохондрий при делении дрожжей и некоторых клеток животных. Наконец, особой формой митоптоза является селективная элиминация митохондрий с вредными мутациями в составе целых фолликулярных клеток яичников млекопитающих. Дальнейшее изучение механизмов митоптоза в норме и при патологиях важно как для понимания процессов развития и старения, так и для разработки терапевтических подходов при воспалительных, нейродегенеративных и других заболеваниях.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** митохондрии, митоптоз, митофагия, мембранный потенциал, апоптоз, воспаление, дифференцировка, асимметричное наследование митохондрий.

DOI: 10.31857/S0320972520120027

### ВВЕДЕНИЕ

Термин «митоптоз» впервые ввел В.П. Скулачев в 1999 г. для обозначения программированной гибели (элиминации) митохондрий в живой клетке [1, 2]. Он предложил концепцию, согласно которой программированная гибель органелл (митоптоз, в случае митохондрий) является движущей силой апоптоза, что может вызывать запрограммированную гибель организма или «феноптоз». Основой этой последовательности событий, по В.П. Скулачеву, является «самурайский закон» в биологии: «лучше умереть, чем ошибиться» [3]. Дальнейшее развитие этой гипотезы привело ее автора к предположению,

что «самурайский закон» лежит в основе запрограммированного старения [4]. В.П. Скулачев предположил, что митоптоз запускается под действием активных форм кислорода (АФК), которые вырабатывают сами митохондрии и, при нарушении баланса с антиоксидантными системами, вызывают повреждения митохондриальных компонентов и нарушение их функций [3]. Одним из основных механизмов митоптоза, по мнению В.П. Скулачева, могло быть открытие неселективной поры во внутренней мембране митохондрий (mitochondrial permeability transition pore).

Дальнейшие исследования показали, что АФК-зависимое повреждение митохондрий действительно является стимулом к апоптозу, но ни долгосрочного открытия неселективной поры, ни элиминации митохондрий при этом не происходит. Необратимые повреждения митохондрий, как правило, происходят на последующих стадиях апоптоза и зависят от активации каспаз. Если предотвратить активацию каспаз с помощью специфического ингибитора, то митохондрии, потеряв часть белков межмембран-

Принятые сокращения: АФК – активные формы кислорода; ЛПС – липополисахарид бактериальной стенки; ДНФ – 2,4-динитрофенол; СССР – карбонилцианид п-(трихлорметокси) фенилгидразон; FCCP – карбонилцианид п-(трифторметокси) фенилгидразон; мтДНК – митохондриальная ДНК; ГСК – гематопоэтические стволовые клетки; NGF – фактор роста нервов; TNF – фактор некроза опухолей.

\* Адресат для корреспонденции.

ного пространства и, в частности, цитохром *c*, сохраняют способность к восстановлению целостности внутренней мембраны, к генерации мембранного потенциала и даже к окислительному фосфорилированию [5]. Таким образом, выход белков из межмембранного пространства митохондрий в цитоплазму, который служит движущей силой апоптоза, не обязательно связан с необратимым повреждением митохондрий. Это, впрочем, не противоречит концепции программированного старения и фенотоза, в основе которых лежит генерация митохондриальных АФК и повреждение митохондрий.

Представление о программированной элиминации митохондрий как о механизме защиты от некорректного функционирования поврежденных органелл (в полном соответствии с «самурайским законом») имело продолжение как в работах учеников и сотрудников В.П. Скулачева, так и в независимых исследованиях. Термин митоптоз получил широкое распространение. При написании этого обзора в базе данных Dimensions (сайт: <https://app.dimensions.ai>), поддерживающей полнотекстовый поиск по научным публикациям и патентам, он встречается 1085 раз. Используется этот термин по-разному. Можно различить «широкое» толкование, которое включает и участие митохондрий в апоптозе [6] и иных формах клеточной гибели [7], а также нарушения митохондриального генома [8] и дегградацию поврежденных митохондрий [9]. В более «узком» значении термин митоптоз применяется для описания программированной массивной элиминации митохондрий. Так, вскоре после «изобретения» термин митоптоз был использован для описания элиминации митохондрий при созревании ретикулоцитов в эритропоэзе [10]. Мы использовали этот термин для обозначения особого механизма полного освобождения клеток от митохондрий при полном разобщении окислительного фосфорилирования [11, 12].

История исследований митоптоза тесно переплетается с изучением процессов обратимой фрагментации митохондрий. В 2004 г. В.П. Скулачев и сотр. сформулировали гипотезу о том, что дробление митохондрий («переход нить—зерно», в терминологии авторов) при стрессе служит для выделения и уничтожения поврежденных органелл (митоптоз) и предшествует апоптозу [13]. Было установлено, что одним из стимулов к фрагментации митохондрий может быть избыточная продукция АФК в этих органеллах [14]. Dcp1-зависимая фрагментация митохондрий, вызванная проапоптотическими белками Вах/Вак, также была описана в терминах митоптоза [15]. В то же время дальнейшие

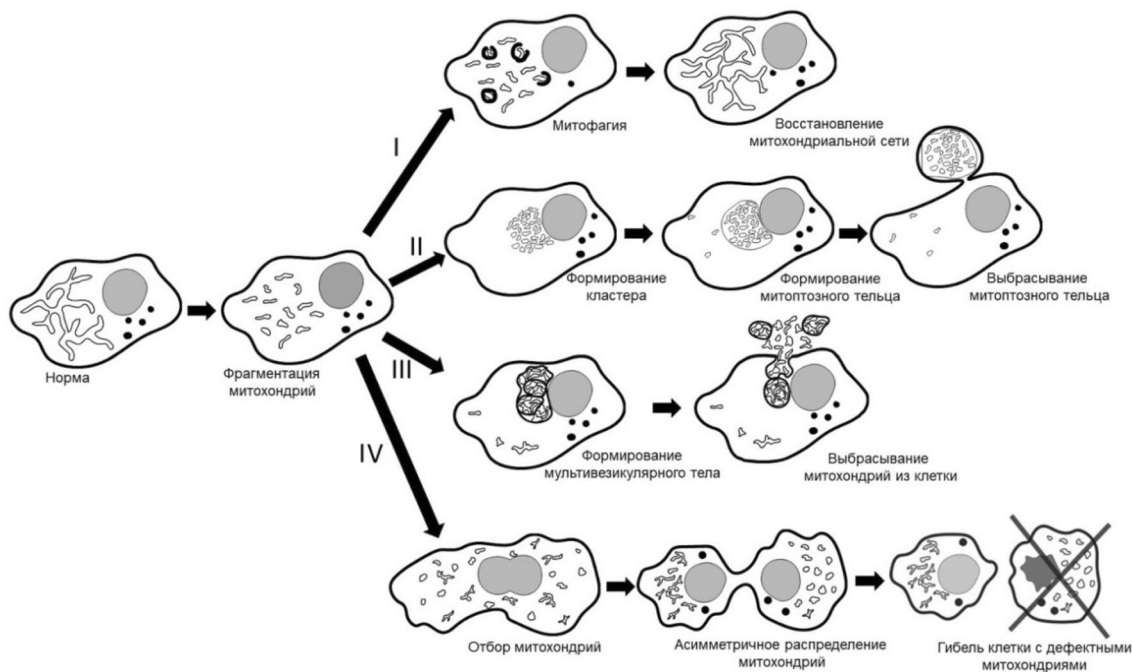
исследования не выявили прямой связи между фрагментацией митохондрий и апоптозом [16]. Более того, даже избирательная аутофагия поврежденных митохондрий (миитофагия) может происходить в отсутствие фрагментации митохондрий [17].

В данном обзоре авторы придерживаются «узкого» значения термина митоптоз. Этот термин предлагается использовать для описания программированной массовой элиминации митохондрий независимо от механизма. Миитофагия является одним из механизмов, который может участвовать в митоптозе, однако, митоптоз, как будет показано ниже, может реализоваться и в отсутствие миитофагии. В обзоре обсуждаются две основные стратегии митоптоза: выброс митохондрий из клетки и массивная дегградация в цитоплазме. За рамками обзора остается возможное участие в митоптозе митохондриальных протеаз [18]. Для тех, кто интересуется ролью митохондрий в апоптозе или механизмами миитофагии, рекомендуем очень содержательные и еще не устаревшие обзоры [19, 20].

### МЕХАНИЗМЫ МИТОПТОЗА, СВЯЗАННЫЕ С ВЫБРОСОМ МИТОХОНДРИЙ ИЗ КЛЕТКИ

**Митоптоз, вызванный разобщением окислительного фосфорилирования.** Основная функция митохондрий — это образование АТФ в процессе окислительного фосфорилирования. Для синтеза АТФ на внутренней мембране митохондрий поддерживается разность электрохимических протонных потенциалов не менее ~180 мВ, которая образуется в результате окисления субстратов дыхательной цепи. Падение мембранного потенциала служит для клетки сигналом о необходимости запуска систем репарации митохондрий или их дегградации, и это происходит независимо от снижения уровня АТФ в клетке. В экспериментах рассеивание мембранного потенциала обычно достигается с помощью протонофоров, разобщителей окислительного фосфорилирования, таких как FCCP, CCCP или ДНФ.

В 2008 г. мы показали, что в клетках HeLa разобщители FCCP или ДНФ в сочетании с ингибиторами дыхательной цепи миксотиазолом или антимисином вызывали окислительный стресс и быструю (в течение 1 ч) фрагментацию митохондрий, но не гибель клеток. Энергетику клеток в этих условиях поддерживал гликолиз. Через 72–96 ч инкубации часть клеток погибала, а оставшиеся в живых клетки практически не содержали митохондрий [11, 12].



Различные механизмы реализации митоптоза. Элиминация митохондрий, как правило, начинается с фрагментации митохондриальной сети. Далее могут реализовываться различные механизмы: I – падение митохондриального потенциала инициирует избирательную аутофагию митохондрий (митофагию); II – при массивном повреждении митохондрий происходит формирование плотных митохондриальных кластеров, которые в дальнейшем окружаются мембраной, формируя митоптозное тельце, и выбрасываются из клетки; III – митохондрии выбрасываются из клетки в составе мультивезикулярного тела по механизму, сходному с экзоцитозом (дифференцировка ретикулоцитов); IV – асимметричное распределение митохондрий между делящимися клетками. После деления клетка, получившая дефектные митохондрии, погибает (ооцит) или прекращает делиться (ГСК)

Элиминация митохондрий начиналась с их фрагментации, после чего фрагментированные митохондрии собирались около ядра и формировали плотные кластеры. Далее эти кластеры окружались мембраной, формируя «митоптозное тельце», которое на финальной стадии выбрасывалось из клетки в межклеточное пространство [12] (рисунок, II). Сборка кластеров в этой модели не зависела ни от микротрубочек, ни от актинового цитоскелета. Возможно, в сборке кластеров участвовали промежуточные филаменты, которые определяют подвижность митохондрий в цитоплазме [21]. Кластеры часто собирались вблизи от ядра в области, характерной для сборки агрегатов денатурированных белков (агресом), однако механизмы агрегации и последующей элиминации для митохондрий и для денатурированных белков были различны. Известно, что для сборки агресом необходимы микротрубочки [22]. Образование кластеров митохондрий наблюдалось в некоторых моделях апоптоза и зависело от движения по микротрубочкам благодаря активности динеина, который сохранял активность в то время, как кинезин (обеспечивающий движение к периферии) был инактивирован [23]. Фрагментация

митохондрий, их кластеризация, образование митоптозных телец и их выброс из клетки, вызванные совместным действием разобщителей и ингибиторов дыхания, не зависели от активности каспаз. Кроме того, клетки, в которых наблюдалась полная элиминация митохондрий, не имели признаков апоптоза: хроматин не был конденсирован, и фосфатидилсерин не был экспонирован на поверхности [12]. Кластеризация митохондрий в перинуклеарной области наблюдалась также при окислительном стрессе [24], тепловом шоке [25] и при заражении вирусным белком [26] в отсутствие признаков апоптоза.

Процесс образования митоптозного тельца внешне напоминал макроаутофагию, но электронная микроскопия показала, что его окружает однослойная мембрана, тогда как мембрана аутофагосом двухслойная. Обнаруженная структура напоминала мультивезикулярное тельце, но было значительно крупнее и содержала везикулы митохондриальной мембраны диаметром 50–200 нм. Однако не было определено, где происходит распад митохондрий на везикулы: в кластерах или в составе митоптозного тельца.

Наши наблюдения не выявили значительной колокализации митохондриальных кластеров и митоптозных телец с аутофагосомами, но в то же время происходила значительная стимуляция аутофагии под действием разобщителей [11, 12]. В значительно более поздней работе показано, что именно снижение мембранного потенциала служит стимулом к аутофагии и митофагии [27]. В модели митоптоза ингибиторы аутофагии (3-метиладенин и вортманнин) вызывали быструю гибель клеток, что указывает на защитное действие аутофагии в условиях нарушенного окислительного фосфорилирования. Не возможно исключить участия аутофагии или отдельных компонентов этого разветвленного механизма в процессе митоптоза, вызванного разобщением окислительного фосфорилирования. Следует отметить, что клетки HeLa, на которых ставились эти опыты, имеют чрезвычайно низкий уровень белка Parkin, который необходим для митофагии вызванной снижением потенциала (см. ниже).

На завершающей стадии митоптоза митоптозное тельце выбрасывалось из клетки. В некоторых клетках удавалось наблюдать митоптозное тельце в выросте плазматической мембраны, который напоминал «блеб», характерный для апоптоза (рисунок, II). Во внеклеточной среде можно было увидеть митоптозные тельца, окруженные мембраной, что указывало на возможность отрыва блеба, содержавшего тельце, от клетки, подобно тому, как это происходит при апоптозе. В то же время, в отличие от апоптозных телец, митоптозные тельца не содержали ядерной ДНК, а их образование не зависело от активности каспаз. Наряду с этим механизмом, в некоторых клетках наблюдался экзоцитоз, при котором мембрана митоптозного тельца сливалась с плазматической мембраной, и митохондриальные везикулы оказывались вне клетки (рисунок, III). Эта картина очень напоминала выброс экзосом при экзоцитозе мультивезикулярных телец. Сходным образом, по-видимому, может быть устроен экзоцитоз агресом. В частности, показано, что тельца Леви (агресомы), образующиеся в нейронах при болезни Паркинсона, деменции и некоторых других заболеваниях, выбрасываются из клетки с помощью экзоцитоза, который не зависит от аппарата Гольджи [28]. Интересно, что фибриллярные агрегаты  $\alpha$ -синуклеина, из которых в основном состоят тельца Леви, подавляли аутофагию, что способствовало эндоцитозу [29]. Ниже представлены примеры того, как клетки выбрасывают компоненты митохондрий в составе экзосом или внеклеточных везикул, окруженных плазматической мембраной.

Имеющиеся данные позволяют обсудить возможные сигнальные механизмы, запускающие митоптоз при разобщении окислительного фосфорилирования. Прежде всего, мы можем исключить снижение уровня АТФ как сигнал к митоптозу, поскольку в течение 48 ч в условиях наших опытов это уровень не изменялся [30]. Кроме того, блокирование АТФазной активности с помощью олигомицина не влияло на процесс митоптоза. Интересно, что ни снижение потенциала под действием ДНФ, ни остановка дыхания с помощью миксотиазола не вызывали митоптоз. Эффективна была лишь комбинация этих веществ. Другой разобщитель FCCP при высокой концентрации (10 мкМ) вызывал митоптоз, но в этих условиях он сильно подавлял дыхание. Условия индукции митоптоза совпадали с условиями индукции максимального окислительного стресса. В присутствии антиоксидантов *N*-ацетилцистеина или Тролокса разобщители вызывали быструю гибель клеток, что указывает на участие АФК в защитном митоптозном сигналинге [12].

Известно, что антиоксиданты являются эффективными ингибиторами аутофагии [31]. Наши эксперименты подтвердили снижение уровня аутофагии, вызванной разобщителями, под действием антиоксидантов. Ингибиторы аутофагии стимулировали гибель клеток в присутствии разобщителей [12]. Эти данные позволяют предположить, что компоненты аутофагии необходимы для образования митоптозного тельца, которое служит для защиты клеток от токсического действия поврежденных митохондрий. Для проверки этой гипотезы необходимы дальнейшие исследования.

Выброс митохондрий, сходный морфологически с описанным выше, наблюдался в нейронах нематоды *Caenorhabditis elegans* [32]. При протеотоксическом стрессе от нейронов отделялись очень крупные (~4 мкм) мембранные везикулы (их назвали «экзоферы»), содержащие митохондрии и агрегаты белков. Авторы показали, что нейроны, выбросившие эти везикулы, переносили стресс значительно лучше, чем те, которым это сделать не удалось. Выброс митохондрий наблюдался также у жгутиков простейших при значительном повышении уровня  $Ca^{2+}$  в цитоплазме [33]. Хотя механизмы митоптоза в этих организмах значительно отличались, можно полагать, что принцип элиминации поврежденных митохондрий путем их выброса из клетки имеет глубокие эволюционные корни.

**Митоптоз и апоптоз.** Митохондрии служат одним из основных компонентов сигнального каскада усиления при апоптозе. Фрагментация митохондрий при апоптозе является, вероятно,

одной из самых ранних реакций клетки на стрессовое воздействие, которая препятствует глобальной деполяризации митохондрий, связанных между собой в единую сеть. В дальнейшем апоптоз развивается благодаря выходу из межмембранного пространства митохондрий ряда белков (в частности, цитохрома *c*), участвующих в активации каспаз. Если по какой-то причине активация каспаз не происходит, то митохондрии могут восстановить свою функциональность [7]. Если восстановить митохондрии не удастся, то дефектные органеллы уничтожаются.

Впервые массовая элиминация митохондрий при апоптозе была описана в работах Tolkovsky et al. [34, 35]. Авторы исследовали апоптоз в культуре симпатических нейронов при лишении их фактора роста нервов (NGF) и обнаружили, что даже при заблокированных каспазах восстановление уровня NGF в среде после 1 сут. депривации не спасает клетки от гибели, которая занимает несколько дней. Оказалось, что через 3 сут. после добавки NGF в клетках происходит практически полная элиминация митохондрий. Этому предшествует падение митохондриального потенциала и выход цитохрома *c* в цитоплазму. Авторы полагали, что элиминация митохондрий происходит при участии аутофагии, однако бафиломицин A1, ингибитор слияния аутофагосом с лизосомами, лишь частично подавлял митоптоз. Интересно, что элиминация митохондрий в нейронах повышает их устойчивость к гипоксии, что указывает на адаптивный характер митоптоза при кратковременном стрессе [35].

Сходная картина элиминации митохондрий наблюдалась на фоне заблокированных каспаз в нейронах при индукции апоптоза цитозин арабинозидом, а также в клеточных линиях HeLa, CHO, 3T3 и Rat 1 под действием стауроспорина [34, 36]. В работе Arnoult et al. [15] было показано, что стауроспорин или актиномицин D в сочетании с ингибитором каспаз вызывают в клетках HeLa митоптоз, который зависит от белка межмембранного пространства митохондрий DDP/TIMM8a. В результате повышения проницаемости внешней митохондриальной мембраны под действием Вах/Vak белок DDP/TIMM8a выходит из межмембранного пространства и связывается с C-концом динамин-подобного белка Dpr1. Это взаимодействие повышает способность Dpr1 связываться с митохондриями, стимулирует их фрагментацию и последующую массовую элиминацию. В этой модели митоптоз был связан с каспаз-независимой гибелью клеток, которая развивалась в течение 3 сут. Этот сценарий практически совпадал с

тем, что наблюдали Tolkovsky et al. на нейронах [34].

Митоптоз в нейронах, возможно, защищает их от повреждения, вызванного травмой мозга. Анализ содержания митохондриальных белков и ДНК в мозге пациентов с травмой показал более чем двукратное снижение по сравнению со здоровым контролем [37]. В крысиной модели травмы мозга наблюдался аналогичный эффект. Авторы показали, что элиминация митохондрий связана с появлением на поверхности внешней мембраны кардиолипина, специфического фосфолипида внутренней мембраны. Ранее было показано, что кардиолипин на поверхности митохондрий служит сигналом для митофагии [38]. При травме мозга у крыс элиминация митохондрий играет защитную роль [37]. В этой же модели активация аутофагии с помощью рапамицина снижала нарушение когнитивных и двигательных функций у крыс [39]. Приведенные результаты можно сопоставить с данными о том, что митофагия защищает мозг от повреждения как при болезни Паркинсона, так и при других нейродегенеративных заболеваниях [40]. Возможно, митоптоз в нейронах протекает по сценарию, сходному с тем, что был описан выше [11, 12]. На это указывает тот факт, что при болезни Альцгеймера накопление тау-белка вызывает кластеризацию митохондрий в перинуклеарной области [41]. Можно предполагать, что митоптоз в нейронах начинается с избыточной продукции АФК в поврежденных митохондриях. Это приводит к падению мембранного потенциала, фрагментации митохондрий и активации митофагии при участии PINK1/Parkin. Если этот механизм не справляется с элиминацией митохондрий при их массовом поражении, то может активироваться кластеризация митохондрий в перинуклеарной области, образование митоптоических телец, которые выбрасываются из клетки [12].

**Митоптоз, вызванный медиаторами воспаления.** Митоптоз, связанный с апоптозом и включающий выброс митохондрий из клеток, возможно, играет важную роль в патогенезе воспалительных и аутоиммунных заболеваний. Появление в крови митохондриальных компонентов и соответствующих аутоантител характерно для многих воспалительных патологий [42].

В работе Nakajima et al. [43] был изучен выброс митохондрий, вызванный провоспалительным цитокином, фактором некроза опухолей (TNF). Авторы наблюдали фрагментацию митохондрий и их захват в однослойные вакуоли, которые формировались из плазматической мембраны. Было показано, что этот процесс зависит от цитоскелета (как от актиновых фибрилл, так

и от микротрубочек) и не тормозится ингибиторами аутофагии. Вакуоли в этой модели сливались с плазматической мембраной, и «голые» митохондрии оказывались во внеклеточной среде, что принципиально отличает этот процесс от блеббинга и формирования апоптотических телец. Подобные результаты были получены при изучении гепатоцитов, выделенных из мышей, получавших антитела к рецептору FAS-лиганда, которые индуцировали сигналинг, сходный с TNF-зависимым.

Массированный выброс митохондриальных белков из гепатоцитов в кровотоки наблюдался еще в одной модели острого воспаления, где мышам внутрибрюшинно вводили липополисахарид бактериальной стенки (ЛПС) [44]. Важно, что эти белки попадали в кровь значительно раньше, чем типичный маркер повреждения гепатоцитов аланинаминотрансфераза. Электронная и иммунофлуоресцентная микроскопия выявила формирование крупных вакуолей вблизи от митохондрий, а ингибитор аутофагосомно-лизосомального пути хлорохин подавлял выброс митохондриальных белков. Более детальное исследование тех же авторов [45] показало, что ЛПС вызывает выброс митохондрий из гепатоцитов и фибробластов *in vitro*. Как и в опытах *in vivo*, ЛПС вызывал выход митохондриальных белков из клеток задолго до проявления признаков гибели. Для выброса митохондрий необходима активация аутофагии, но не активация каспаз. Данные электронной микроскопии указывают на то, что аутофагосомы, захватившие митохондрии, сливаются не с лизосомами, а с плазматической мембраной, выбрасывая «голые» митохондрии в среду. Кроме митохондриальных белков, во внеклеточной среде появлялась и митохондриальная ДНК. Как и в работе, посвященной эффекту TNF и FAS-лиганда, авторы предполагают, что выброс митохондрий способствует развитию воспалительного ответа.

Еще одним источником внеклеточных митохондриальных компонентов при воспалении могут служить лимфоциты. При активации апоптоза в Т-клетках под действием FAS-лиганда наблюдаются различные формы деградации митохондрий: фрагменты крист с конденсированным матриксом, но без внешней мембраны; «тени» митохондрий, лишенные внутренней мембраны и матрикса; митохондрии в составе аутофагосом [46]. В этой модели деградации митохондрий предшествовало их «перемешивание» с секреторными везикулами аппарата Гольджи [46], что предполагает возможность выброса компонентов митохондрий из клетки. Быстрый массированный выброс мтДНК был

обнаружен у В- и Т-лимфоцитов, а также у натуральных киллерных клеток в ответ на олигонуклеотиды [47]. У лимфоцитов при этом не наблюдалось признаков некроза, апоптоза или некроптоза, и не была активирована аутофагия. Внеклеточная мтДНК взаимодействовала с мононуклеарами периферической крови и стимулировала в них выработку противовирусного интерферона первого типа [47].

**Тромбоциты.** Основным источником митохондриального материала в крови являются тромбоциты, составляющие ~5% форменных элементов крови и имеющие высокое содержание митохондрий. В составе экзосом и внеклеточных везикул, секретлируемых тромбоцитами при стимуляции различными гуморальными факторами, а также некоторыми клетками, обнаруживаются компоненты митохондрий наряду с другим клеточным содержимым [48]. Электронная микроскопия показала, что выбрасываются как мембранные везикулы, содержащие митохондрии, так и «голые» органеллы. Выброс митохондрий в обоих случаях зависел от актинового цитоскелета, но не от микротрубочек [48]. Яркое подтверждение роли внеклеточных митохондрий тромбоцитов в развитии патологий были получены при изучении концентратов тромбоцитов, предназначенных для переливания крови [49]. Оказалось, что содержание в них внеклеточного митохондриального материала коррелировало с вероятностью возникновения осложнений после переливания. Правда, в данном случае, трудно было различить митохондрии, выброшенные из живых клеток и разрушившихся тромбоцитов. В модели, не требующей выделения клеток, было показано, что содержание митохондриального материала тромбоцитов в крови коррелировало с тяжестью протекания системной красной волчанки, тяжелого аутоиммунного заболевания [50].

**Выброс митохондриальной ДНК.** Тромбоциты не являются единственным источником митохондриальной ДНК и других компонентов митохондрий во внеклеточных жидкостях. Так, при обработке моноцитов с помощью ЛПС *in vitro*, а также в крови добровольцев после введения низких доз ЛПС наблюдалось накопление экзосом, обогащенных мтДНК и белками митохондрий [51]. Эти экзосомы стимулировали продукцию воспалительных цитокинов в клетках эндотелия, причем эффективность стимуляции зависела от содержания в них митохондриального материала. Интересно, что предобработка моноцитов митохондриально-направленным антиоксидантом MitoTEMPO значительно снижала способность экзосом к стимуляции эндотелия. По-видимому, основным про-

воспалительным действием обладали окисленные компоненты митохондрий в составе экзосом [51]. Известно, что эндотелий также участвует в образовании экзосом и в обмене сигналами с клетками крови [52].

Стимуляция тучных клеток *in vivo* под действием иммунных комплексов (IgE/anti-IgE) или пептида «субстанции Р» приводила к секреции экзосом, содержащих мтДНК [53]. Как и в случае моноцитов, выброс митохондриальных компонентов из тучных клеток мог способствовать развитию как локального, так и системного воспаления.

Секреция митохондрий может служить для доставки митохондриальных компонентов в другие клетки. Так, например, ДНК-содержащие везикулы, секретируемые активированными Т-клетками, могут взаимодействовать с дендритными клетками, переносить в них ДНК (включая митохондриальную) и индуцировать реакции противовирусной защиты [54]. Предполагается, что межклеточный перенос митохондрий с помощью везикул, а также иных механизмов, может выполнять не только сигнальные функции, но и служить для усиления энергетического метаболизма в клетках реципиентах [55], однако эта гипотеза требует тщательной проверки.

Все перечисленные выше примеры выброса митохондрий и мтДНК не связаны с гибелью клеток. Другим источником мтДНК в крови могут быть различные формы программированной гибели клеток. Наиболее хорошо исследована гибель нейтрофилов (т.н. НЕТоз), при которой из клетки выбрасывается деконденсированный хроматин, и образуются «внеклеточные ловушки» (neutrophil extracellular traps, NETs) [56]. НЕТоз может вызываться различными патогенами, такими как бактерии, грибы, простейшие, вирусы, а также ЛПС, иммунными комплексами, микрокристаллами и другими физиологическими стимулами. Выброс ловушек способствует уничтожению патогенов, но при этом служит причиной мощных воспалительных и аутоиммунных реакций и связанных с ними заболеваний. Выброс гигантских ДНК-белковых комплексов происходит без разрыва плазматической мембраны через поры, образованные белком газдермином Д [57]. Интересно, что на ранних стадиях НЕТоза может происходить разрушение митохондрий, чему способствует открытие неселективной митохондриальной поры [58]. Не вызывает сомнений, что мтДНК и другие компоненты митохондрий выходят из нейтрофилов в процессе НЕТоза [42].

Наряду с «классическим» НЕТозом описано явление т.н. «витального НЕТоза», при котором

из клеток выбрасывается, в основном, мтДНК, и жизнеспособность и естественные эффекторные функции нейтрофила сохраняются [56]. Впервые прижизненный выброс ДНК нейтрофилами был описан в системе, где присутствовали тромбоциты, активированные ЛПС [59]. Сходный «витальный НЕТоз» наблюдался *in vivo* при заражении кожи грамположительными бактериями [60]. Интересно, что после этого безядерные нейтрофилы были способны к хемотаксису и фагоцитозу бактерий. Массированный и очень быстрый выброс митохондриальной мтДНК без утраты жизнеспособности наблюдался в эозинофилах и нейтрофилах, преобразованных воспалительными цитокинами IL-5/IFN- $\gamma$  или GM-CSF, соответственно, и стимулированных ЛПС [61, 62]. В обоих типах гранулоцитов этот процесс зависел от активности NADPH-оксидазы, как и в большинстве случаев «классического» НЕТоза. Вопрос о функциональной роли массированного выброса мтДНК остается открытым. Низкое содержание митохондрий в нейтрофилах и, особенно, в эозинофилах делает маловероятным образование функциональных ловушек для патогенов. В случае лимфоцитов (см. выше) фибриллярная мтДНК выполняет сигнальную функцию, стимулируя противовирусный ответ мононуклеаров периферической крови [47]. Как уже отмечалось, внеклеточная мтДНК (часто окисленная) встречается в крови при широком спектре патологий, включая системную красную волчанку, аутоиммунное заболевание, в патогенезе которого важную роль играет НЕТоз [42].

### МИТОПТОЗ, СВЯЗАННЫЙ С ЭЛИМИНАЦИЕЙ МИТОХОНДРИЙ ВНУТРИ КЛЕТКИ

**Митоптоз при терминальной дифференцировке.** Основным механизмом элиминации митохондрий внутри клетки является их селективная аутофагия (митофагия) (рисунок, I). Этот механизм использует основные компоненты неселективной макроаутофагии, но с помощью различных адаптерных белков выделяет поврежденные митохондрии и направляет их в аутофагосомы и далее в аутолизосомы. Наиболее хорошо исследована система контроля качества митохондрий на основе белков PINK1/Parkin [63]. Снижение мембранного потенциала митохондрий препятствует транспорту протеинкиназы PINK1 в матрикс митохондрии и его деградации, что приводит к его экспонированию на внешней поверхности митохондрий и привлечению убиквитин-лигазы Parkin. Убиквити-

нирование митохондриальных белков с помощью Parkin служит сигналом для захвата митохондрий аутофагосомой. Кроме PINK1/Parkin-зависимой митофагии, в условиях гипоксии или при окислительном стрессе могут запускаться альтернативные варианты избирательного уничтожения митохондрий при участии таких белков, как DJ-1, BNIP3L/NIX, BNIP3 и FUNDC1 [64]. Главным предназначением митофагии несомненно является контроль качества митохондрий путем элиминации поврежденных органелл. В то же время митофагия участвует в массовом уничтожении митохондрий (митоптозе) при некоторых формах терминальной дифференцировки и перестройке метаболизма.

Наиболее известен митоптоз при эритропоэзе. В кроветворных органах происходит энуклеация эритробластных предшественников с образованием ретикулоцитов, которые затем лишаются митохондрий и превращаются в эритроциты. Электронно-микроскопические исследования дифференцировки ретикулоцитов [65] показали, что сначала около митохондрий собираются мембранные везикулы неизвестного происхождения, затем везикулы сливаются и окружают митохондрию двухслойной мембраной. Это процесс во многом напоминает аутофагию. В то же время наблюдался выход митохондрий из клетки после слияния окружавшей их мембраны с плазматической, что не характерно для «канонической» аутофагии. Детали процесса выброса митохондрий из ретикулоцитов, как и в других подобных случаях митоптоза, остаются не до конца изученными.

Важнейшим компонентом программы митоптоза ретикулоцитов является белок BNIP3L/NIX, который принадлежит к большому семейству белков, родственных Bcl-2, основные функции которых связаны с регуляцией участия митохондрий в апоптозе. Функции NIX, однако, связаны с митофагией, а его участие в апоптозе слабо изучено [66, 67]. NIX связывается с одним из основных белков аутофагосомы LC3 и служит адаптером при митофагии. При дифференцировке ретикулоцитов экспрессия NIX многократно возрастает [68], а его нокаут полностью останавливает митоптоз [69].

Еще одним белком, без которого не происходит митофагия в ретикулоцитах, является киназа ULK1 [70]. ULK1 участвует в инициации различных, но не всех известных форм аутофагии [71]. В канонической аутофагии ULK1 активируется при недостатке субстратов, но причины ее активации и мишени в ретикулоцитах не выяснены. Исследования роли других белков аутофагического каскада, проведенные с по-

мощью нокаута соответствующих генов, показали, что Atg5, один из основных белков, участвующих в формировании аутофагосомы при канонической аутофагии, не нужен для элиминации митохондрий в ретикулоцитах [72]. Лишь частично этот процесс зависит от белка Atg7, активирующего Atg5 [73]. Митофагия, независимая от Atg7, наблюдалась в клетках при эритролейкемии K562 в присутствии разобщителя окислительного фосфорилирования [74]. Интересно, что в фибробластах с нокаутом по Atg5 и оверэкспрессией BNIP также наблюдалась элиминация деполяризованных митохондрий при участии поздних эндосом, образующих однослойную мембрану вокруг митохондрий [75]. Возможное участие этих механизмов в дифференцировке ретикулоцитов еще только предстоит выяснить.

Данных о возможном выбросе митохондрий из ретикулоцитов в процессе дифференцировки, за исключением ранних электронно-микроскопических наблюдений [65], нам обнаружить не удалось. Возможность экзоцитоза аутофагосом была продемонстрирована в различных типах клеток [76]. С помощью этого механизма из клеток могут выбрасываться сигнальные молекулы (в частности, цитокины), агрегаты белков, микроорганизмы и фрагменты органелл. Кроме того, аутофагосомы могут взаимодействовать с мультивезикулярными тельцами и выбрасывать свое содержимое в составе экзосом. Ретикулоциты были первым типом клеток, для которого описано образование экзосом. Многочисленные данные о присутствии митохондриальных компонентов в экзосомах различных типов клеток мы уже приводили выше. Наряду с экзосомами, в выбросе митохондрий из ретикулоцитов могут участвовать и внеклеточные везикулы, образованные плазматической мембраной. Такие везикулы, несущие основной сиалогликопротеид мембраны эритроцитов гликофорин А и содержащие компоненты митохондрий и лизосом, были обнаружены в процессе дифференцировки человеческих ретикулоцитов *in vitro* [77].

Важную роль в элиминации митохондрий ретикулоцитов, наряду с митофагией и выбросом органелл, по-видимому, играет окислительная и протеолитическая деградация. В процессе дифференцировки митохондриальные мембраны подвергаются окислению с помощью 15-липноксигеназы [78]. Окисление мембран активирует АТФ-зависимый протеолиз мембранных белков [79]. Остается загадкой, как эти реакции соотносятся с механизмами, описанными выше. Интересно, что у мышей с генетически нарушенной функцией исправления ошибок репли-



кации в митохондриальной ДНК-полимеразе PolG наблюдаются нарушения в процессе элиминации митохондрий при эритропоэзе [80]. Эти данные указывают на то, что митохондрии могут играть более активную роль в процессе митоптоза в ретикулоцитах.

Помимо эритропоэза, митоптоз, в той или иной степени, участвует в терминальной дифференцировке волокон хрусталика, адипоцитов и кератиноцитов. При формировании хрусталика митохондрии и все прочие органеллы элиминируются в волокнах, которые образуют т.н. зону свободную от органелл. Таким образом достигается максимальная возможная прозрачность. Механизм митоптоза при дифференцировке хрусталика изучен недостаточно. Показано лишь, что для него необходим BNIP3L/NIX и это указывает на участие митофагии [81]. Неожиданно оказалось, что этот белок необходим также для элиминации аппарата Гольджи и эндоплазматического ретикулума, но не ядра. При формировании хрусталика наблюдается выраженная активация аутофагии, но нокаут гена *Atg5* не нарушает образование «зоны, свободной от органелл» [82]. Интересно, что у мышей с нокаутом гена *Atg5* с возрастом быстро развивалась катаракта, что указывает на участие аутофагии в поддержании прозрачности хрусталика. К сожалению, возможность участия альтернативной *Atg5/Atg7* независимой аутофагии в элиминации органелл выяснить не удалось, поскольку нокаут соответствующих генов нарушал образование хрусталика на ранних стадиях развития [82]. Интересный пример обратимого митоптоза наблюдается в колбачках сетчатки сусликов [83]. В процессе гибернации в этих клетках активируется аутофагия, и практически полностью исчезают митохондрии, а также многие другие органеллы, однако после пробуждения клеточный состав восстанавливается.

При дифференцировке адипоцитов происходит уничтожение значительной части митохондрий. Показано, что нарушение аутофагии [84] или нокаут *Parkin* [85] приводят к превращению белого жира в бежевый с повышенным содержанием митохондрий. Подобно бурому жиру, он способен к поддержанию термогенеза. Дифференцировка адипоцитов из ранних предшественников зависит от рецептора митофагии *Bcl2l13*, который способствует метаболической перестройке клеток [86].

Митофагия может играть важную роль в дифференцировке клеток, которые сохраняют высокое содержание митохондрий. Так, дифференцировка кератиноцитов зависит от BNIP3 и активной аутофагии [87]. Интересно, что ороговение кератиноцитов при росте волос также

происходит при участии митофагии, но в этом случае адаптером служит BNIP3L/NIX [88]. Митофагия участвует в миогенной дифференцировке, как было показано для иммортализованных миобластов линии C2C12 [89] и предшественников кардиомиоцитов [90, 91]. Интересно, что в последнем случае дифференцировка зависела как от *PINK1/Parkin*, так и от адаптеров митофагии BNIP3L/NIX и *FUNDC1*. Предполагается, что в мышечных клетках митофагия приводит к обновлению популяции митохондрий, формированию разветвленной митохондриальной сети и повышению эффективности окислительного фосфорилирования.

**Митоптоз и метаболическая перестройка.** Известны случаи, когда дифференцировка и функционирование клеток зависят от перестройки метаболизма, связанного с митоптозом. Так, у дрожжей при голодании по источникам азота и глюкозе происходит активация митофагии и значительное (более 50%) снижение содержания митохондрий [92]. Митохондриальные белки в данном случае расщепляются и служат источником азота для синтеза нуклеотидов. Перестройка энергетического метаболизма с окислительного на гликолитический также может происходить при участии митоптоза. Наиболее ярко зависимость клеточной судьбы от метаболической перестройки и митоптоза проявляется в случае стволовых клеток. Как эмбриональные, так и гематопоетические стволовые клетки имеют низкое содержание митохондрий, и их метаболизм полностью зависит от гликолиза. В последнем случае такое состояние соответствует гипоксии, характерной для гематопоетической ниши, и поддерживается благодаря активной митофагии [93]. Детальный механизм митофагии в этих клетках неизвестен, но показано, что нокаут гена *Atg7* приводит к нарушению как эритропоэза, так и лимфопоэза [94]. Зависимость «стволовости» от содержания митохондрий проявляется в том, что перепрограммирование соматических клеток в плюрипотентные зависит от митофагии, которая активируется при участии BNIP3L/NIX [95], а также *PINK1* [96]. Интересно, что в дрожжах переход на гликолитический метаболизм, связанный со снижением содержания митохондрий, зависит не от элиминации митохондрий, а от снижения экспрессии митохондриальных белков (т.н. «глюкозная репрессия»).

Приведенные выше примеры терминальной дифференцировки при участии митоптоза (ретикулоциты, волокна хрусталика, адипоциты) также включают метаболическую перестройку. Еще одним примером зависимости метаболической перестройки от митоптоза служит диф-

ференцировка ганглионарных клеток сетчатки, нейронов, аксоны которых образуют зрительный нерв [97]. Митоптоз в этом случае зависит от BNIP3L/NIX и активируется благодаря гипоксии при участии транскрипционного фактора Hif1 $\alpha$ . В той же работе было показано, что BNIP3L/NIX-зависимая митофагия участвует в дифференцировке и метаболической перестройке провоспалительных M1 макрофагов [97].

Гликолиз обеспечивает значительно более быстрое, хотя и менее эффективное, энергонабжение клетки. Это ярко проявляется в случае быстро делящихся клеток, однако и раковые клетки, и активированные T-лимфоциты сохраняют высокое содержание митохондрий. Таким образом, митоптоз не является единственным возможным механизмом метаболической перестройки.

**Уничтожение отцовских митохондрий при материнском наследовании мтДНК.** Особым случаем, когда клетки избавляются от митохондрий, является уничтожение отцовских митохондрий в зародышевой линии многоклеточных животных. Наследование мтДНК строго от одного из родителей (обычно матери) благодаря активному уничтожению отцовских митохондрий очень широко распространено в природе, в то время как передача мтДНК от обоих родителей – относительно редкое исключение. Так, например, у нематоды *C. elegans* оплодотворение яйцеклетки приводит к активации аутофагии, с помощью которой разрушаются отцовские митохондрии. Нарушение этого процесса, вызванное мутацией в гене *LGG-1* (гомолог *LC3*, основного компонента аутофагосомы), приводит к тому, что отцовская мтДНК сохраняется в развивающемся эмбрионе [98]. На поверхности наружной мембраны митохондрий сперматозоидов *C. elegans* находится большое количество рецепторов митофагии FNDC1 (гомолог FUNDC-1), что приводит к селективному уничтожению отцовских митохондрий в зиготе независимо от убиквитинирования [99]. Одновременно в зиготе *C. elegans* происходит убиквитин-зависимая деградация отцовских митохондрий. Эта деградация зависит от субъединиц протеасомы, которые служат рецепторами убиквитина, и способствует созреванию аутофагосомы и ее слиянию с лизосомами [100].

Интересно, что митофагия принимает участие в деградации митохондрий даже в тех случаях, когда не наблюдается строгого наследования мтДНК от одного из родителей. Так, например, у пекарских дрожжей (наследование мтДНК от обоих родителей) слияние клеток противоположного типа спаривания приводит к активации Atg32- и Atg33-зависимой митофагии. Это поз-

воляет им избавляться от мутантных вариантов мтДНК [101].

Удивительно велико разнообразие механизмов, с помощью которых происходит деградация отцовских митохондрий (или мтДНК) у разных таксонов [102]. У плодовых мушек дрозофил деградация мтДНК происходит еще в сперматозоидах, в этом процессе принимает участие митохондриальная эндонуклеаза EndoG [103]. При этом, если в гене *EndoG* содержится мутация, нарушающая ее функцию, то все равно сперматозоиды избавляются от митохондриальной ДНК в результате «тримминга» их хвостов: завершающий этап сперматогенеза заключается в том, что 64 специальные структуры «investment cones» крепятся к актиновым филаментам у ядра и с помощью различных миозинов двигаются к хвосту, собирая все остатки митохондрий и другие органеллы. Кончик хвоста с собранным в нем материалом затем отрезается [103]. Уничтожение митохондрий, по-видимому, происходит без участия митофагии, но ее адаптерные белки оказываются необходимы. Показано, что для мутантов по PINK1 или Parkin характерна мужская стерильность, однако детали возможного участия митофагии в сперматогенезе остаются невыясненными. Если в яйцеклетку вместе со сперматозоидом все же проникают митохондрии, то они уничтожаются с помощью Parkin-независимой аутофагии и эндосом, которые собираются в мультивезикулярные тельца [104].

У млекопитающих механизмы элиминации отцовской мтДНК (и митохондрий) и их эффективность до сих пор остаются неясными. Было обнаружено, что у мышей мтДНК отсутствует в наиболее подвижных сперматозоидах, которые с наибольшей вероятностью участвуют в оплодотворении. В этих клетках были обнаружены вакуолизованные митохондрии и митохондриальные компоненты сохранялись после оплодотворения в некоторых клетках зиготы вплоть до стадии морулы [105]. Однако эта работа не получила подтверждения в дальнейшем. Напротив, было показано, что митохондрии из сперматозоида при попадании в яйцеклетку деполаризуются в течение 48 ч и деградируют на этапе 3-ого деления бластомеров с помощью двух убиквитин-лигаз Parkin и MUL1, каждая из которых участвует в элиминации [106]. Кроме них, в уничтожении отцовских митохондрий участвуют компоненты аутофагии (белки SQSTM1/p62 и GABARAP) и валозин-содержащий белок (VCP), который взаимодействует с убиквитином и протеасомной системой деградации белков [107]. Убиквитинирование митохондрий также происходит у мышей при сперматогенезе [108].

## АСИММЕТРИЧНОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ

В предыдущих разделах были обсуждены сценарии, в которых митохондрии уничтожались специализированными внутриклеточными системами или выбрасывались из клетки. Помимо этих двух возможностей, избавление от неправильно функционирующих митохондрий может происходить «вместе» с клеткой при асимметричном распределении митохондрий между делящимися клетками (рисунок, IV).

Простейшим примером клеток с асимметричным наследованием митохондрий могут служить почкующиеся дрожжи — *Saccharomyces cerevisiae*. При вегетативном делении дрожжей митохондрии не случайным образом распределяются между материнской и дочерней клетками, а подвергаются сортировке. Этому процессу способствует активный транспорт митохондрий между клетками [109], а также селективное закоривание в дочерней клетке митохондрий с высоким мембранным потенциалом [110] и уровнем восстановленности матрикса, измеренным с помощью редокс-чувствительного флуоресцентного белка roGFP [111]. Такая активная сегрегация митохондрий приводит к тому, что дочерние клетки с большей вероятностью получают митохондрии без каких-либо нарушений. Материнские клетки, наоборот, с каждым последующим делением обогащаются дефектными митохондриями. В результате этого обогащения уже после образования всего нескольких почек (дочерних клеток) в материнской клетке наблюдаются изменения в структуре митохондриального ретикулума и накапливаются деполяризованные митохондрии [112]. После образования 15–25 дочерних клеток материнская клетка погибает, и увеличение вероятности гибели материнской клетки с каждой последующей образованной почкой получило название «репликативное старение».

Асимметричное распределение митохондрий было также описано для клеток животных, в частности, при созревании ооцитов [113] и сенсорных клеток внутреннего уха [114], а также для раковых [115] и гематопозитических [116] стволовых клеток. В процессе созревания мышинового ооцита происходит два мейоза, при которых образуются и затем погибают т. н. полярные тельца. Полярное тельце, возникающее при первом мейозе, практически лишено митохондрий, и это происходит в результате их активного движения в ооцит с помощью актиновых филаментов [113]. Интересно, что при втором мейозе митохондрии равномерно распределяются между ооцитом и полярным тельцем. При формировании волосковых клеток, которые служат зву-

ковыми сенсорами во внутреннем ухе, асимметричное распределение митохондрий происходит при митозе и образовании поддерживающих клеток [114].

Наиболее детально асимметричное распределение митохондрий было исследовано в клетках, полученных из опухоли молочной железы и имеющих признаки стволовых раковых клеток [115]. В этих клетках экспрессировали митохондриально-адресованный фотоактивируемый белок раGFP и затем активировали его ультрафиолетом. Поскольку после освещения синтез раGFP продолжался, флуоресценция сохранялась только в «старых» митохондриях. Оказалось, что при делении одна из дочерних клеток получает значительно больше «старых» митохондрий, а в другой — больше «новых» митохондрий. При этом клетки, получившие меньше «старых» митохондрий, демонстрировали более выраженные свойства стволовых клеток [115]. Такое распределение митохондрий зависело от динамин-подобного белка Drp1, участвующего в фрагментации митохондрий, и не терялось при снижении мембранного потенциала. Позднее в этой модели было показано [117], что более «стволовые» клетки получают митохондрии с более высоким содержанием восстановленного глутатиона и сниженной продукцией АФК. Как и при распределении митохондрий в дрожжах, «молодые» митохондрии закреплялись на плазматической мембране с помощью еще одного динамин-подобного белка митофузина, который участвует в слиянии митохондрий. В «нестволовых» клетках из опухоли молочной железы распределение митохондрий было симметричным [117]. Асимметричное распределение митохондрий было недавно обнаружено при делении гематопозитических стволовых клеток (ГСК) [116]. Для этих клеток характерно асимметричное деление, при котором одна из дочерних клеток сохраняет свойства ГСК, а другая дифференцируется. В этой работе было показано, что после трансплантации костного мозга активация деления ГСК приводит к тому, что в клетках, которые остаются стволовыми, накапливаются дефектные митохондрии, имеющие низкий мембранный потенциал и высокий уровень продукции митохондриальных АФК. Общее содержание митохондрий при этом не отличалось от исходного, но они имели более вытянутую форму и дезорганизованные кристы. Авторы полагают, что такое распределение митохондрий происходит благодаря инактивации Drp1. Фармакологическое или генетическое выключение Drp1 предотвращало дифференцировку ГСК и сохраняло их стволовость. Как уже отмечалось, неделившиеся ГСК имеют низкое

содержание митохондрий, и оно поддерживается благодаря активной митофагии [93]. Возможно, накопление дефектных митохондрий при делении ГСК определяет старение пула стволовых клеток с возрастом.

Наиболее известным примером селекции митохондрий в составе целых клеток является атрезия фолликулярных клеток яичников [118]. На стадии первичного фолликула в зародышевой линии млекопитающих происходит значительное снижение числа копий митохондриальной ДНК в расчете на одну клетку. Клетки, получившие преимущественно мтДНК с вредными мутациями, погибают с большей вероятностью, и, тем самым, снижается вероятность передачи дефектной мтДНК потомству [119]. Атрезия фолликулов яичников, вероятно, является одним из механизмов контроля качества мтДНК и играет роль митоптоза в зародышевой линии млекопитающих. Таким образом, селективное уничтожение поврежденных митохондрий возможно и при внешне симметричном делении клеток животных за счет выбраковки целых клеток, получивших такие митохондрии.

В.П. Скулачев стал автором нескольких терминов, прочно вошедших в современную науку. Он, в частности, в 1968 г. предложил использовать термин «биоэнергетика» для обозначения науки, изучающей механизмы преобразования энергии в живых организмах. Этот термин ранее был использован нобелевским лауреатом А. Сент-Дьердьи для описания своих представлений о жизни и ее энергообеспечении, но не получил распространения. Интересно, что отдел биоэнергетики в МГУ был организован Владимиром Петровичем в 1965 г. за три года до официальных «крестин» новой науки. Введение термина «митоптоз» имело большое значение для формирования концепции «феноптоза». Этот термин был предложен В.П. Скулачевым для

обозначения программированной гибели организма и как частный случай программы старения. Надо отметить, что в 1999 г. были лишь начаты исследования системы контроля качества митохондрий, а термин «митофагия» был предложен Дж. Лемастерсом в 2005 г. В данном обзоре показано, что митоптоз включен в очень широкий круг процессов, включая дифференцировку и воспаление, а митофагия может служить одним, но не единственным, механизмом программированной элиминации митохондрий. Изучение механизмов митоптоза чрезвычайно важно как для понимания нормальных физиологических процессов, так и различных патологий, в том числе, воспалительных и нейродегенеративных заболеваний. Эти механизмы очень разнообразны и некоторые их ключевые моменты, такие как процесс выброса митохондрий из клетки, пока изучены недостаточно.

Мы посвящаем этот обзор Владимиру Петровичу Скулачеву, который не только стоял у истоков изучения митоптоза, но на многие годы стал любимым Учителем для авторов, их друзей и сотрудников. Мы от всей души поздравляем Владимира Петровича с прошедшим юбилеем и желаем ему долгой счастливой и плодотворной жизни на благо науки.

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 17-14-01314-П), а также при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология».

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Skulachev, V. P. (1999) Mitochondrial physiology and pathology; concepts of programmed death of organelles, cells and organisms, *Mol. Aspects Med.*, **20**, 139-184, doi: 10.1016/s0098-2997(99)00008-4.
2. Skulachev, V. P. (1999) Phenoptosis: programmed death of an organism, *Biochemistry*, **64**, 1418-1426.
3. Skulachev, V. P. (2000) Mitochondria in the programmed death phenomena; a principle of biology: "it is better to die than to be wrong", *IUBMB Life*, **49**, 365-373, doi: 10.1080/152165400410209.
4. Skulachev, V. P. (2001) The programmed death phenomena, aging, and the samurai law of biology, *Exp. Gerontol.*, **36**, 995-1024, doi: 10.1016/s0531-5565(01)00109-7.
5. Von Ahnen, O., Renken, C., Perkins, G., Kluck, R. M., Bossy-Wetzel, E., and Newmeyer, D. D. (2000) Preservation of mitochondrial structure and function after Bid- or Bax-mediated cytochrome *c* release, *J. Cell Biol.*, **150**, 1027-1030, doi: 10.1083/jcb.150.5.1027.
6. Garcia Fernandez, M., Troiano, L., Moretti, L., Nasi, M., Pinti, M., Salvioli, S., et al. (2002) Early changes in intramitochondrial cardiolipin distribution during apoptosis, *Cell Growth Differ.*, **13**, 449-455.
7. Bota, D. A., Ngo, J. K., and Davies, K. J. A. (2005) Downregulation of the human Lon protease impairs mitochondrial structure and function and causes cell death, *Free Radic. Biol. Med.*, **38**, 665-677, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.11.017.
8. Rose, G., Passarino, G., Franceschi, C., and De Benedictis, G. (2002) The variability of the mitochondrial genome in human aging: a key for life and death? *Int. J.*

- Biochem. Cell Biol.*, **34**, 1449-1460, doi: 10.1016/s1357-2725(02)00042-0.
9. Tinari, A., Garofalo, T., Sorice, M., Esposti, M. D., and Malorni, W. (2007) Mitoptosis: different pathways for mitochondrial execution, *Autophagy*, **3**, 282-284, doi: 10.4161/auto.3924.
  10. Géminard, C., de Gassart, A., and Vidal, M. (2002) Reticulocyte maturation: mitoptosis and exosome release, *Biocell*, **26**, 205-215.
  11. Lyamzaev, K. G., Pletjushkina, O. Y., Saprunova, V. B., Bakeeva, L. E., Chernyak, B. V., and Skulachev, V. P. (2004) Selective elimination of mitochondria from living cells induced by inhibitors of bioenergetic functions, *Biochem. Soc. Trans.*, **32**, 1070-1071, doi: 10.1042/BST0321070.
  12. Lyamzaev, K. G., Nepryakhina, O. K., Saprunova, V. B., Bakeeva, L. E., Pletjushkina, O. Y., et al. (2008) Novel mechanism of elimination of malfunctioning mitochondria (mitoptosis): formation of mitoptotic bodies and extrusion of mitochondrial material from the cell, *Biochim. Biophys. Acta*, **1777**, 817-825, doi: 10.1016/j.bbabi.2008.03.027.
  13. Skulachev, V. P., Bakeeva, L. E., Chernyak, B. V., Domnina, L. V., Minin, A. A., et al. (2004) Thread-grain transition of mitochondrial reticulum as a step of mitoptosis and apoptosis, *Mol. Cell. Biochem.*, **256-257**, 341-358, doi: 10.1023/b:mcbi.0000009880.94044.49.
  14. Pletjushkina, O. Y., Lyamzaev, K. G., Popova, E. N., Nepryakhina, O. K., Ivanova, O. Y., et al. (2006) Effect of oxidative stress on dynamics of mitochondrial reticulum, *Biochim. Biophys. Acta*, **1757**, 518-524, doi: 10.1016/j.bbabi.2006.03.018.
  15. Arnould, D., Rismanchi, N., Grodet, A., Roberts, R.G., Seeburg, D.P., et al. (2005) Bax/Bak-dependent release of DDP/TIMM8a promotes Drp1-mediated mitochondrial fission and mitoptosis during programmed cell death, *Curr. Biol.*, **15**, 2112-2118, doi: 10.1016/j.cub.2005.10.041.
  16. Ishihara, N., Nomura, M., Jofuku, A., Kato, H., Suzuki, S. O., Masuda, K., et al. (2009) Mitochondrial fission factor Drp1 is essential for embryonic development and synapse formation in mice, *Nat. Cell Biol.*, **11**, 958-966, doi: 10.1038/ncb1907.
  17. Burman, J. L., Pickles, S., Wang, C., Sekine, S., Vargas, J. N. S., et al. (2017) Mitochondrial fission facilitates the selective mitophagy of protein aggregates, *J. Cell. Biol.*, **216**, 3231-3247, doi: 10.1083/jcb.201612106.
  18. Quirós, P. M., Langer, T., and López-Otín, C. (2015) New roles for mitochondrial proteases in health, ageing and disease, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **16**, 345-359, doi: 10.1038/nrm3984.
  19. Palikaras, K., Lionaki, E., and Tavernarakis, N. (2018) Mechanisms of mitophagy in cellular homeostasis, physiology and pathology, *Nat. Cell. Biol.*, **20**, 1013-1022, doi: 10.1038/s41556-018-0176-2.
  20. Bock, F. J., and Tait, S. W. G. (2020) Mitochondria as multifaceted regulators of cell death, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **21**, 85-100, doi: 10.1038/s41580-019-0173-8.
  21. Tolstonog, G. V., Belichenko-Weitzmann, I. V., Lu, J.-P., Hartig, R., Shoeman, R. L., Traub, U., et al. (2005) Spontaneously immortalized mouse embryo fibroblasts: growth behavior of wild-type and vimentin-deficient cells in relation to mitochondrial structure and activity, *DNA Cell. Biol.*, **24**, 680-709, doi: 10.1089/dna.2005.24.680.
  22. Kopito, R. R. (2000) Aggresomes, inclusion bodies and protein aggregation, *Trends Cell Biol.*, **10**, 524-530, doi: 10.1016/s0962-8924(00)01852-3.
  23. Tanaka, Y., Kanai, Y., Okada, Y., Nonaka, S., Takeda, S., et al. (1998) Targeted disruption of mouse conventional kinesin heavy chain, kif5B, results in abnormal perinuclear clustering of mitochondria, *Cell*, **93**, 1147-1158, doi: 10.1016/s0092-8674(00)81459-2.
  24. Hallmann, A., Milczarek, R., Lipicki, M., Kossowska, E., Spodnik, J. H., et al. (2004) Fast perinuclear clustering of mitochondria in oxidatively stressed human choriocarcinoma cells, *Folia Morphol.*, **63**, 407-412.
  25. Agarwal, S., and Ganesh, S. (2020) Perinuclear mitochondrial clustering, increased ROS levels, and HIF1 are required for the activation of HSF1 by heat stress, *J. Cell. Sci.*, doi: 10.1242/jcs.245589.
  26. Kim, S., Kim, H.-Y., Lee, S., Kim, S.W., Sohn, S., Kim, K., et al. (2007) Hepatitis B virus x protein induces perinuclear mitochondrial clustering in microtubule- and Dynein-dependent manners, *J. Virol.*, **81**, 1714-1726, doi: 10.1128/JVI.01863-06.
  27. Lyamzaev, K. G., Tokarchuk, A. V., Panteleeva, A. A., Mulkidjanian, A. Y., Skulachev, V. P., and Chernyak, B. V. (2018) Induction of autophagy by depolarization of mitochondria, *Autophagy*, **14**, 921-924, doi: 10.1080/15548627.2018.1436937.
  28. Lee, H.-J., Patel, S., and Lee, S.-J. (2005) Intravesicular localization and exocytosis of alpha-synuclein and its aggregates, *J. Neurosci.*, **25**, 6016-6024, doi: 10.1523/JNEUROSCI.0692-05.2005.
  29. Lee, H.-J., Cho, E.-D., Lee, K.W., Kim, J.-H., Cho, S.-G., and Lee, S.-J. (2013) Autophagic failure promotes the exocytosis and intercellular transfer of alpha-synuclein, *Exp. Mol. Med.*, **45**, 22, doi: 10.1038/emmm.2013.45.
  30. Izyumov, D. S., Avetisyan, A. V., Pletjushkina, O. Y., Sakharov, D. V., Wirtz, K. W., et al. (2004) "Wages of fear": transient threefold decrease in intracellular ATP level imposes apoptosis, *Biochim. Biophys. Acta*, **1658**, 141-147, doi: 10.1016/j.bbabi.2004.05.007.
  31. Ravikumar, B., Sarkar, S., Davies, J. E., Futter, M., Garcia-Arencibia, M., Green-Thompson, Z. W., et al. (2010) Regulation of mammalian autophagy in physiology and pathophysiology, *Physiol. Rev.*, **90**, 1383-1435, doi: 10.1152/physrev.00030.2009.
  32. Melentijevic, I., Toth, M. L., Arnold, M. L., Guasp, R. J., Harinath, G., et al. (2017) *C. elegans* neurons jettison protein aggregates and mitochondria under neurotoxic stress, *Nature*, **542**, 367-371, doi: 10.1038/nature21362.
  33. Bisharyan, Y., and Clark, T. G. (2011) Calcium-dependent mitochondrial extrusion in ciliated protozoa, *Mitochondrion*, **11**, 909-918, doi: 10.1016/j.mito.2011.08.001.
  34. Fletcher, G. C., Xue, L., Passingham, S. K., and Tolkovsky, A. M. (2000) Death commitment point is advanced by axotomy in sympathetic neurons, *J. Cell. Biol.*, **150**, 741-754, doi: 10.1083/jcb.150.4.741.
  35. Xue, L., Fletcher, G. C., and Tolkovsky, A. M. (2001) Mitochondria are selectively eliminated from eukaryotic cells after blockade of caspases during apoptosis, *Curr. Biol.*, **11**, 361-365, doi: 10.1016/s0960-9822(01)00100-2.
  36. Tolkovsky, A. M., Xue, L., Fletcher, G. C., and Borutaite, V. (2002) Mitochondrial disappearance from cells: a clue to the role of autophagy in programmed cell death and disease? *Biochimie*, **84**, 233-240, doi: 10.1016/s0300-9084(02)01371-8.
  37. Chao, H., Lin, C., Zuo, Q., Liu, Y., Xiao, M., et al. (2019) Cardiolipin-dependent mitophagy guides outcome after traumatic brain injury, *J. Neurosci.*, **39**, 1930-1943, doi: 10.1523/JNEUROSCI.3415-17.2018.
  38. Chu, C. T., Ji, J., Dagda, R. K., Jiang, J. F., Tyurina, Y. Y., et al. (2013) Cardiolipin externalization to the outer mitochondrial membrane acts as an elimination signal for mitophagy in neuronal cells, *Nat. Cell. Biol.*, **15**, 1197-1205, doi: 10.1038/ncb2837.
  39. Wang, C., Hu, Z., Zou, Y., Xiang, M., Jiang, Y., et al. (2017) The post-therapeutic effect of rapamycin in mild traumatic brain-injured rats ensuing in the upregulation of autophagy and mitophagy, *Cell. Biol. Int.*, **41**, 1039-1047, doi: 10.1002/cbin.10820.
  40. Lou, G., Palikaras, K., Lautrup, S., Scheibye-Knudsen, M., Tavernarakis, N., and Fang, E. F. (2020) Mitophagy and neuroprotection, *Trends Mol. Med.*, **26**, 8-20, doi: 10.1016/j.molmed.2019.07.002.

41. Ebneth, A., Godemann, R., Stamer, K., Illenberger, S., Trinczek, B., and Mandelkow, E. (1998) Overexpression of tau protein inhibits kinesin-dependent trafficking of vesicles, mitochondria, and endoplasmic reticulum: implications for Alzheimer's disease, *J. Cell. Biol.*, **143**, 777-794, doi: 10.1083/jcb.143.3.777.
42. Lood, C., Blanco, L. P., Purmalek, M. M., Carmona-Rivera, C., De Ravin, S. S., et al. (2016) Neutrophil extracellular traps enriched in oxidized mitochondrial DNA are interferogenic and contribute to lupus-like disease, *Nat. Med.*, **22**, 146-153, doi: 10.1038/nm.4027.
43. Nakajima, A., Kurihara, H., Yagita, H., Okumura, K., and Nakano, H. (2008) Mitochondrial extrusion through the cytoplasmic vacuoles during cell death, *J. Biol. Chem.*, **283**, 24128-24135, doi: 10.1074/jbc.M802996200.
44. Unuma, K., Aki, T., Matsuda, S., Funakoshi, T., Yoshida, K.-I., and Uemura, K. (2013) Elimination and active extrusion of liver mitochondrial proteins during lipopolysaccharide administration in rat, *Hepatol. Res.*, **43**, 526-534, doi: 10.1111/j.1872-034X.2012.01084.x.
45. Unuma, K., Aki, T., Funakoshi, T., Hashimoto, K., and Uemura, K. (2015) Extrusion of mitochondrial contents from lipopolysaccharide-stimulated cells: involvement of autophagy, *Autophagy*, **11**, 1520-1536, doi: 10.1080/15548627.2015.1063765.
46. Ouasti, S., Matarrese, P., Paddon, R., Khosravi-Far, R., Sorice, M., et al. (2007) Death receptor ligation triggers membrane scrambling between Golgi and mitochondria, *Cell Death Differ.*, **14**, 453-461, doi: 10.1038/sj.cdd.4402043.
47. Ingelsson, B., Söderberg, D., Strid, T., Söderberg, A., Bergh, A.-C., et al. (2018) Lymphocytes eject interferogenic mitochondrial DNA webs in response to CpG and non-CpG oligodeoxynucleotides of class C, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 478-487, doi: 10.1073/pnas.1711950115.
48. De Paoli, S. H., Tegegn, T. Z., Elhelu, O. K., Strader, M. B., Patel, M., et al. (2018) Dissecting the biochemical architecture and morphological release pathways of the human platelet extracellular vesiculome, *Cell Mol. Life Sci.*, **75**, 3781-3801, doi: 10.1007/s00018-018-2771-6.
49. Boudreau, L. H., Duchez, A.-C., Cloutier, N., Soulet, D., Martin, N., et al. (2014) Platelets release mitochondria serving as substrate for bactericidal group IIA-secreted phospholipase A2 to promote inflammation, *Blood*, **124**, 2173-2183, doi: 10.1182/blood-2014-05-573543.
50. Linge, P., Fortin, P. R., Lood, C., Bengtsson, A. A., and Boilard, E. (2018) The non-haemostatic role of platelets in systemic lupus erythematosus, *Nat. Rev. Rheumatol.*, **14**, 195-213, doi: 10.1038/nrrheum.2018.38.
51. Puhm, F., Afonyushkin, T., Resch, U., Obermayer, G., Rohde, M., et al. (2019) Mitochondria are a subset of extracellular vesicles released by activated monocytes and induce type I IFN and TNF responses in endothelial cells, *Circ. Res.*, **125**, 43-52, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.314601.
52. Baruah, J., and Wary, K. K. (2019) Exosomes in the regulation of vascular endothelial cell regeneration, *Front. Cell Dev. Biol.*, **7**, 353, doi: 10.3389/fcell.2019.00353.
53. Zhang, B., Asadi, S., Weng, Z., Sismanopoulos, N., and Theoharides, T. C. (2012) Stimulated human mast cells secrete mitochondrial components that have autocrine and paracrine inflammatory actions, *PLoS One*, **7**, e49767, doi: 10.1371/journal.pone.0049767.
54. Torralba, D., Baixauli, F., Villarroya-Beltri, C., Fernández-Delgado, I., Latorre-Pellicer, A., et al. (2018) Priming of dendritic cells by DNA-containing extracellular vesicles from activated T cells through antigen-driven contacts, *Nat. Commun.*, **9**, 2658, doi: 10.1038/s41467-018-05077-9.
55. Torralba, D., Baixauli, F., and Sánchez-Madrid, F. (2016) Mitochondria know no boundaries: mechanisms and functions of intercellular mitochondrial transfer, *Front. Cell Dev. Biol.*, **4**, 107, doi: 10.3389/fcell.2016.00107.
56. Yousefi, S., Simon, D., Stojkov, D., Karsonova, A., Karaulov, A., and Simon, H.-U. (2020) In vivo evidence for extracellular DNA trap formation, *Cell Death Dis.*, **11**, 300, doi: 10.1038/s41419-020-2497-x.
57. Kambara, H., Liu, F., Zhang, X., Liu, P., Bajrami, B., et al. (2018) Gasdermin D exerts anti-inflammatory effects by promoting neutrophil death, *Cell Rep.*, **22**, 2924-2936, doi: 10.1016/j.celrep.2018.02.067.
58. Vorobjeva, N., Galkin, I., Pletjushkina, O., Golyshev, S., Zinovkin, R., et al. (2020) Mitochondrial permeability transition pore is involved in oxidative burst and NETosis of human neutrophils, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.*, **1866**, 165664, doi: 10.1016/j.bbdis.2020.165664.
59. Clark, S. R., Ma, A. C., Tavener, S. A., McDonald, B., Goodarzi, Z., et al. (2007) Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood, *Nat. Med.*, **13**, 463-469, doi: 10.1038/nm1565.
60. Yipp, B. G., Petri, B., Salina, D., Jenne, C. N., Scott, B. N. V., et al. (2012) Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking *in vivo*, *Nat. Med.*, **18**, 1386-1393, doi: 10.1038/nm.2847.
61. Yousefi, S., Gold, J. A., Andina, N., Lee, J. J., Kelly, A. M., et al. (2008) Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense, *Nat. Med.*, **14**, 949-953, doi: 10.1038/nm.1855.
62. Yousefi, S., Mihalache, C., Kozłowski, E., Schmid, I., and Simon, H. U. (2009) Viable neutrophils release mitochondrial DNA to form neutrophil extracellular traps, *Cell Death Differ.*, **16**, 1438-1444, doi: 10.1038/cdd.2009.96.
63. Tanaka, K. (2020) The PINK1-parkin axis: an overview, *Neurosci Res.*, doi: 10.1016/j.neures.2020.01.006.
64. Liu, L., Sakakibara, K., Chen, Q., and Okamoto, K. (2014) Receptor-mediated mitophagy in yeast and mammalian systems, *Cell Res.*, **24**, 787-795, doi: 10.1038/cr.2014.75.
65. Simpson, C. F., and Kling, J. M. (1968) The mechanism of mitochondrial extrusion from phenylhydrazine-induced reticulocytes in the circulating blood, *J. Cell. Biol.*, **36**, 103-109.
66. Ney, P. A. (2015) Mitochondrial autophagy: origins, significance, and role of BNIP3 and NIX, *Biochim. Biophys. Acta*, **1853**, 2775-2783, doi: 10.1016/j.bbamcr.2015.02.022.
67. Marinković, M., Šprung, M., and Novak, I. (2020) Dimerization of mitophagy receptor BNIP3L/NIX is essential for recruitment of autophagic machinery, *Autophagy*, 1-12, doi: 10.1080/15548627.2020.1755120.
68. Aerbajinai, W., Giattina, M., Lee, Y. T., Raffeld, M., and Miller, J. L. (2003) The roapoptotic factor Nix is coexpressed with Bcl-xL during terminal erythroid differentiation, *Blood*, **102**, 712-717, doi: 10.1182/blood-2002-11-3324.
69. Schweers, R. L., Zhang, J., Randall, M. S., Loyd, M. R., Li, W., et al. (2007) NIX is required for programmed mitochondrial clearance during reticulocyte maturation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 19500-19505, doi: 10.1073/pnas.0708818104.
70. Kundu, M., Lindsten, T., Yang, C.-Y., Wu, J., Zhao, F., et al. (2008) Ulk1 plays a critical role in the autophagic clearance of mitochondria and ribosomes during reticulocyte maturation, *Blood*, **112**, 1493-1502, doi: 10.1182/blood-2008-02-137398.
71. Wong, P.-M., Puente, C., Ganley, I. G., and Jiang, X. (2013) The ULK1 complex: sensing nutrient signals for autophagy activation, *Autophagy*, **9**, 124-137, doi: 10.4161/auto.23323.
72. Honda, S., Arakawa, S., Nishida, Y., Yamaguchi, H., Ishii, E., and Shimizu, S. (2014) Ulk1-mediated Atg5-independent macroautophagy mediates elimination of mitochondria from embryonic reticulocytes, *Nat. Commun.*, **5**, 4004, doi: 10.1038/ncomms5004.
73. Zhang, J., Randall, M. S., Loyd, M. R., Dorsey, F. C., Kundu, M., et al. (2009) Mitochondrial clearance is regulated by Atg7-dependent and -independent mechanisms

- during reticulocyte maturation, *Blood*, **114**, 157-164, doi: 10.1182/blood-2008-04-151639.
74. Wang, J., Fang, Y., Yan, L., Yuan, N., Zhang, S., Xu, L., et al. (2016) Erythroleukemia cells acquire an alternative mitophagy capability, *Sci Rep*, **6**, 24641, doi: 10.1038/srep24641.
  75. Hammerling, B. C., Shires, S. E., Leon, L. J., Cortez, M. Q., and Gustafsson, Å. B. (2020) Isolation of Rab5-positive endosomes reveals a new mitochondrial degradation pathway utilized by BNIP3 and Parkin, *Small GTPases*, **11**, 69-76, doi: 10.1080/21541248.2017.1342749.
  76. Laude-Taupin, A., Jia, J., Mudd, M., and Deretic, V. (2017) Autophagy's secret life: secretion instead of degradation, *Essays Biochem.*, **61**, 637-647, doi: 10.1042/EBC20170024.
  77. Griffiths, R. E., Kupzig, S., Cogan, N., Mankelov, T. J., Betin, V. M. S., et al. (2012) Maturing reticulocytes internalize plasma membrane in glycoprotein A-containing vesicles that fuse with autophagosomes before exocytosis, *Blood*, **119**, 6296-6306, doi: 10.1182/blood-2011-09-376475.
  78. Schmidt, J., Prehn, S., and Rapoport, S. M. (1985) Proteolysis during *in vitro*-maturation of rabbit reticulocytes, *Biomed. Biochim. Acta*, **44**, 1429-1434.
  79. Rapoport, S. M., and Schewe, T. (1986) The maturational breakdown of mitochondria in reticulocytes, *Biochim. Biophys. Acta*, **864**, 471-495, doi: 10.1016/0304-4157(86)90006-7.
  80. Ahlqvist, K. J., Leoncini, S., Pecorelli, A., Wortmann, S. B., Ahola, S., et al. (2015) MtDNA mutagenesis impairs elimination of mitochondria during erythroid maturation leading to enhanced erythrocyte destruction, *Nat. Commun.*, **6**, 6494, doi: 10.1038/ncomms7494.
  81. Brennan, L. A., McGreal-Estrada, R., Logan, C. M., Cvekl, A., Menko, A. S., and Kantorow, M. (2018) BNIP3L/NIX is required for elimination of mitochondria, endoplasmic reticulum and Golgi apparatus during eye lens organelle-free zone formation, *Exp. Eye Res.*, **174**, 173-184, doi: 10.1016/j.exer.2018.06.003.
  82. Morishita, H., and Mizushima, N. (2016) Autophagy in the lens, *Exp. Eye Res.*, **144**, 22-28, doi: 10.1016/j.exer.2015.08.019.
  83. Remé, C. E., and Young, R. W. (1977) The effects of hibernation on cone visual cells in the ground squirrel, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **16**, 815-840.
  84. Altshuler-Keylin, S., Shinoda, K., Hasegawa, Y., Ikeda, K., Hong, H., et al. (2016) Beige adipocyte maintenance is regulated by autophagy-induced mitochondrial clearance, *Cell. Metab.*, **24**, 402-419, doi: 10.1016/j.cmet.2016.08.002.
  85. Lu, X., Altshuler-Keylin, S., Wang, Q., Chen, Y., Henrique Sponton, C., et al. (2018) Mitophagy controls beige adipocyte maintenance through a Parkin-dependent and UCP1-independent mechanism, *Sci. Signal.*, **11**, doi: 10.1126/scisignal.aap8526.
  86. Fujiwara, M., Tian, L., Le, P. T., DeMambro, V. E., Becker, K. A., et al. (2019) The mitophagy receptor Bcl-2-like protein 13 stimulates adipogenesis by regulating mitochondrial oxidative phosphorylation and apoptosis in mice, *J. Biol. Chem.*, **294**, 12683-12694, doi: 10.1074/jbc.RA119.008630.
  87. Moriyama, M., Moriyama, H., Uda, J., Matsuyama, A., Osawa, M., and Hayakawa, T. (2014) BNIP3 plays crucial roles in the differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes, *J. Invest. Dermatol.*, **134**, 1627-1635, doi: 10.1038/jid.2014.11.
  88. Jones, L. A., Harland, D. P., Jarrold, B. B., Connolly, J. E., and Davis, M. G. (2018) The walking dead: sequential nuclear and organelle destruction during hair development, *Br. J. Dermatol.*, **178**, 1341-1352, doi: 10.1111/bjd.16148.
  89. Sin, J., Andres, A. M., Taylor, D. J. R., Weston, T., Hiraumi, Y., et al. (2016) Mitophagy is required for mitochondrial biogenesis and myogenic differentiation of C2C12 myoblasts, *Autophagy*, **12**, 369-380, doi: 10.1080/15548627.2015.1115172.
  90. Gong, G., Song, M., Csordas, G., Kelly, D. P., Matkovich, S. J., and Dorn, G. W., 2nd. (2015) Parkin-mediated mitophagy directs perinatal cardiac metabolic maturation in mice, *Science*, **350**, 2459, doi: 10.1126/science.aad2459.
  91. Lampert, M. A., Orogo, A. M., Najor, R. H., Hammerling, B. C., Leon, L. J., et al. (2019) BNIP3L/NIX and FUNDC1-mediated mitophagy is required for mitochondrial network remodeling during cardiac progenitor cell differentiation, *Autophagy*, **15**, 1182-1198, doi: 10.1080/15548627.2019.1580095.
  92. Kanki, T., and Klionsky, D. J. (2008) Mitophagy in yeast occurs through a selective mechanism, *J. Biol. Chem.*, **283**, 32386-32393, doi: 10.1074/jbc.M802403200.
  93. Joshi, A., and Kundu, M. (2013) Mitophagy in hematopoietic stem cells: the case for exploration, *Autophagy*, **9**, 1737-1749, doi: 10.4161/auto.26681.
  94. Mortensen, M., Ferguson, D. J. P., Edelmann, M., Kessler, B., Morten, K.J., et al. (2010) Loss of autophagy in erythroid cells leads to defective removal of mitochondria and severe anemia *in vivo*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 832-837, doi: 10.1073/pnas.0913170107.
  95. Xiang, G., Yang, L., Long, Q., Chen, K., Tang, H., et al. (2017) BNIP3L-dependent mitophagy accounts for mitochondrial clearance during 3 factors-induced somatic cell reprogramming, *Autophagy*, **13**, 1543-1555, doi: 10.1080/15548627.2017.1338545.
  96. Vazquez-Martin, A., Van den Haute, C., Cufí, S., Corominas-Faja, B., Cuyàs, E., et al. (2016) Mitophagy-driven mitochondrial rejuvenation regulates stem cell fate, *Aging*, **8**, 1330-1352, doi: 10.18632/aging.100976.
  97. Esteban-Martínez, L., Sierra-Filardi, E., McGreal, R. S., Salazar-Roa, M., Mariño, G., et al. (2017) Programmed mitophagy is essential for the glycolytic switch during cell differentiation, *EMBO J.*, **36**, 1688-1706, doi: 10.15252/emj.201695916.
  98. Al Rawi, S., Louvet-Vallée, S., Djeddi, A., Sachse, M., Culetto, E., et al. (2011) Postfertilization autophagy of sperm organelles prevents paternal mitochondrial DNA transmission, *Science*, **334**, 1144-1147, doi: 10.1126/science.1211878.
  99. Lim, Y., Rubio-Peña, K., Sobraske, P. J., Molina, P. A., Brookes, P. S., et al. (2019) Fndc-1 contributes to paternal mitochondria elimination in *C. elegans*, *Dev. Biol.*, **454**, 15-20, doi: 10.1016/j.ydbio.2019.06.016.
  100. Molina, P., Lim, Y., and Boyd, L. (2019) Ubiquitination is required for the initial removal of paternal organelles in *C. elegans*, *Dev. Biol.*, **453**, 168-179, doi: 10.1016/j.ydbio.2019.05.015.
  101. Karavaeva, I. E., Golyshev, S. A., Smirnova, E. A., Sokolov, S. S., Severin, F. F., and Knorre, D. A. (2017) Mitochondrial depolarization in yeast zygotes inhibits clonal expansion of selfish mtDNA, *J. Cell Sci.*, **130**, 1274-1284, doi: 10.1242/jcs.197269.
  102. Sato, M., and Sato, K. (2013) Maternal inheritance of mitochondrial DNA by diverse mechanisms to eliminate paternal mitochondrial DNA, *Biochim. Biophys. Acta*, **1833**, 1979-1984, doi: 10.1016/j.bbamcr.2013.03.010.
  103. DeLuca, S. Z., and O'Farrell, P. H. (2012) Barriers to male transmission of mitochondrial DNA in sperm development, *Dev. Cell*, **22**, 660-668, doi: 10.1016/j.devcel.2011.12.021.
  104. Politi, Y., Gal, L., Kalifa, Y., Ravid, L., Elazar, Z., and Arama, E. (2014) Paternal mitochondrial destruction after fertilization is mediated by a common endocytic and autophagic pathway in *Drosophila*, *Dev. Cell*, **29**, 305-320, doi: 10.1016/j.devcel.2014.04.005.
  105. Luo, S.-M., Ge, Z.-J., Wang, Z.-W., Jiang, Z.-Z., Wang, Z.-B., et al. (2013) Unique insights into maternal mitochondrial inheritance in mice, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 13038-13043, doi: 10.1073/pnas.1303231110.
  106. Rojansky, R., Cha, M.-Y., and Chan, D. C. (2016) Elimination of paternal mitochondria in mouse embryos

- occurs through autophagic degradation dependent on PARKIN and MUL1, *Elife*, **5**, doi: 10.7554/eLife.17896.
107. Song, W.-H., Yi, Y.-J., Sutovsky, M., Meyers, S., and Sutovsky, P. (2016) Autophagy and ubiquitin-proteasome system contribute to sperm mitophagy after mammalian fertilization, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 5261-5270, doi: 10.1073/pnas.1605844113.
  108. Sutovsky, P., Moreno, R. D., Ramalho-Santos, J., Dominko, T., Simerly, C., and Schatten, G. (1999) Ubiquitin tag for sperm mitochondria, *Nature*, **402**, 371-372, doi: 10.1038/46466.
  109. Fehrenbacher, K. L., Yang, H.-C., Gay, A. C., Huckaba, T. M., and Pon, L. A. (2004) Live cell imaging of mitochondrial movement along actin cables in budding yeast, *Curr. Biol.*, **14**, 1996-2004, doi: 10.1016/j.cub.2004.11.004.
  110. Higuchi-Sanabria, R., Charalel, J. K., Viana, M. P., Garcia, E. J., Sing, C. N., et al. (2016) Mitochondrial anchorage and fusion contribute to mitochondrial inheritance and quality control in the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Mol. Biol. Cell*, **27**, 776-787, doi: 10.1091/mbc.E15-07-0455.
  111. McFaline-Figueroa, J. R., Vevea, J., Swayne, T. C., Zhou, C., Liu, C., et al. (2011) Mitochondrial quality control during inheritance is associated with lifespan and mother-daughter age asymmetry in budding yeast, *Aging Cell*, **10**, 885-895, doi: 10.1111/j.1474-9726.2011.00731.x.
  112. Knorre, D. A., Azbarova, A. V., Galkina, K. V., Feniouk, B. A., and Severin, F. F. (2018) Replicative aging as a source of cell heterogeneity in budding yeast, *Mech. Ageing Dev.*, **176**, 24-31, doi: 10.1016/j.mad.2018.09.001.
  113. Dalton, C. M., and Carroll, J. (2013) Biased inheritance of mitochondria during asymmetric cell division in the mouse oocyte, *J. Cell Sci.*, **126**, 2955-2964, doi: 10.1242/jcs.128744.
  114. Rivolta, M. N., and Holley, M. C. (2002) Asymmetric segregation of mitochondria and mortalin correlates with the multi-lineage potential of inner ear sensory cell progenitors *in vitro*, *Brain Res. Dev. Brain Res.*, **133**, 49-56, doi: 10.1016/s0165-3806(01)00321-2.
  115. Katajisto, P., Döhla, J., Chaffer, C. L., Pentimikko, N., Marjanovic, N., et al. (2015) Stem cells. Asymmetric apportioning of aged mitochondria between daughter cells is required for stemness, *Science*, **348**, 340-343, doi: 10.1126/science.1260384.
  116. Hinge, A., He, J., Bartram, J., Javier, J., Xu, J., et al. (2020) Asymmetrically segregated mitochondria provide cellular memory of hematopoietic stem cell replicative history and drive HSC attrition, *Cell. Stem. Cell*, **26**, 420-430, doi: 10.1016/j.stem.2020.01.016.
  117. Wu, M.-J., Chen, Y.-S., Kim, M.R., Chang, C.-C., Gampala, S., et al. (2019) Epithelial-mesenchymal transition directs stem cell polarity *via* regulation of mitofusin, *Cell. Metab.*, **29**, 993-1002, doi: 10.1016/j.cmet.2018.11.004.
  118. Krakauer, D. C., and Mira, A. (1999) Mitochondria and germ-cell death, *Nature*, **400**, 125-126, doi: 10.1038/22026.
  119. Floros, V. I., Pyle, A., Dietmann, S., Wei, W., Tang, W. C. W., et al. (2018) Segregation of mitochondrial DNA heteroplasmy through a developmental genetic bottleneck in human embryos, *Nat. Cell. Biol.*, **20**, 144-151, doi: 10.1038/s41556-017-0017-8.

## MITOPTOSIS, TWENTY YEARS AFTER

### Review

**K. G. Lyamzaev<sup>1</sup>, D. A. Knorre<sup>1,2</sup>, and B. V. Chernyak<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> *Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia; E-mail: bchernyak1@gmail.com*

<sup>2</sup> *Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 119992 Moscow, Russia*

Received July 8, 2020

Revised August 14, 2020

Accepted August 14, 2020

In 1999 V. P. Skulachev proposed the term “mitoptosis” to refer to the programmed elimination of mitochondria in living cells. According to the initial thought, mitoptosis serves to protect cells from malfunctioning of the damaged mitochondria. At the same time, a new mechanism of the complete mitochondria elimination was found under the conditions of massive mitochondrial damage associated with oxidative stress. In this experimental model, mitochondrial cluster formation in the perinuclear region leads to the formation of “mitoptotic body” surrounded by a single-layer membrane and subsequent release of mitochondria from the cell. Later, it was found that mitoptosis plays an important role in various normal and pathological processes that are not necessarily associated with the mitochondrial damage. It was found that mitoptosis takes place during cell differentiation, self-maintenance of hematopoietic stem cells, metabolic remodelling, and elimination of the paternal mitochondria in organisms with the maternal inheritance of the mitochondrial DNA. Moreover, the associated with mitoptosis release of mitochondrial components into the blood may be involved in the transmission of signals between cells, but also leads to the development of inflammatory and autoimmune diseases. Mitoptosis can be attributed to the asymmetric inheritance of mitochondria in the division of yeast and some animal cells, when the defective mitochondria are transferred to one of the newly formed cells. Finally, a specific form of mitoptosis appears to be selective elimination of mitochondria with deleterious mutations in whole follicular ovarian cells in mammals. During formation of the primary follicle, the mitochondrial DNA copy number is significantly reduced. After division, the cells that receive predominantly mitochondria with deleterious mutations in their mtDNA die, thereby reducing the likelihood of transmission of these mutations to offspring. Further study of the mechanisms of mitoptosis in normal and pathological conditions is important both for understanding the processes of development and aging, and for designing therapeutic approaches for inflammatory, neurodegenerative and other diseases.

**Keywords:** mitochondria, mitoptosis, mitophagy, membrane potential, apoptosis, inflammation, differentiation, asymmetric inheritance of mitochondria